云 南 植 物 研 究 2002，**24**（2）：170～184
Acta Botanica Yunnanica

DNA 序列在植物系统学研究中的应用*

田 欣，李德铢**

（中国科学院昆明植物研究所，云南 昆明 650204）

摘要：植物 DNA **序列由于进化速率上的差异而适用于不同分类阶元的系统发育研究，因此，针对某一特定的系统学问题选择相应合适的分子片段是分子系统学研究中最为关键的一步。在前人研究的基础上，主要讨论了目前分子系统发育和进化研究中一些常用的** DNA **序列的适用范围，包括** nrDNA **的** 18S **基因及** ITS **等非编码区，**cpDNA **的编码基因（***rbc*L、*mat*K、*ndh*F、*atp*B**）及非编码区序列（***rpL*16、*rpo*C1、*rps*16、*trn*L-F **和** *trn*T-L**）和应用较少的** mtDNA。**研究表明，**18S、*rbc*L **等编码基因及** mtDNA **一般适用于较高分类阶元甚至整个种子植物谱系间的系统发育的探讨，而** ITS **及** cpDNA **的非编码区序列等因其较快的进化速率多用于较低分类阶元的系统关系研究。**

关键词：DNA **序列；进化速率；系统学意义**

中图分类号：Q 75，Q 949　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**0253－2700(2002)02－0170－15

Application of DNA Sequences in Plant Phylogenetic Study

TIAN Xin，LI De-Zhu

(*Kunming Institute of Botany*，*Chinese Academy of Sciences*，Kunming 650204，China)

Abstract：DNA sequences，because of their disparity in the rate of evolution，are suitable for phylogenetic study at different taxonomic levels. It is，therefore，the most significant process to select an appropriate DNA region to address a certain phylogenetic issues. Based on previous data and our own study，the suitable range of some DNA sequences that are commonly used in current molecular phylogenetic study is mainly focused in this review. These sequences contain 18S gene and non-coding regions (such as ITS) of nrDNA，coding regions（*rbc*L，*mat*K，*ndh*F and *atp*B etc.）and non-coding regions（*rpL*16，*rpo*C1，*rps*16，*trn*L-F and *trn*T-L etc.）of cpDNA，and mtDNA，which is seldom used. It is inferred that，in general，the coding genes such as 18S，*rbc*L and mtDNA are likely informative to resolve phylogenetic issues ranging from higher taxonomic ranks to the relationships among seed plant lineages. The non-coding DNA regions (such as ITS，introns and intergenic spacers of cpDNA) are presumed to be more useful at lower taxonomic levels because of their faster evolutionary rates.

Key words：DNA sequences；Evolutionary rates；Systematic implication

---

* **基金项目：国家杰出青年基金（编号** 39725001**），中国科学院知识创新工程和中国科学院百人计划资助项目**
** **通讯作者：**DZL@mail. kib. ac. cn
收稿日期：2001－05－15，2001－07－04 **接受发表**
作者简介：田欣（1976－**）女，黑龙江人，在读博士生，主要从事植物系统与进化的研究。**

由于 PCR 技术的产生及人们对植物基因组了解的日益加深，DNA 测序正蓬勃发展并成为比较分子数据的一个主要手段，为植物系统发育研究开辟了广阔的前景。

植物基因组因其结构和功能上的差异，进化速率也有所不同。总的来说，核基因组进化最快，约为叶绿体基因组的 2 倍；线粒体基因组进化最慢，还不到叶绿体基因组的 1/3（Wolfe 等，1987）；基因组内，不同部分间的序列变异速度也不同，一般情况下非编码区序列（包括内含子、基因间区）因其功能上的限制较少，比编码区表现出更快的进化速率（Curtis & Clegg，1984；Palmer，1991；Clegg 等，1994），而叶绿体单拷贝区的同义替代率总的来说约为反向重复序列的 4 倍（Wolfe 等，1987）；至于同一基因组内的各编码序列或非编码序列的变异方式和速率也是千差万别。这些序列在进化速率上的差异为不同分类阶元的系统发育研究提供了可供选择的多样化的性状来源。

由此可见，针对某一特定的系统学问题选择相应合适的分子片段可以说是分子系统学研究中最基础、最关键的一步。如果所选的片段在进化上太保守，使得所研究类群的序列都几乎相等，就会浪费大量的时间来收集这些相似的没有多大系统学价值的数据；另一方面，如果所选片段在研究类群间的变异太大，就会给排序带来很大的困难并造成排序的不确定性，同样不能产生强有力的支持率。导致高度分化的序列产生低支持率结果的原因有二：1）同塑性（homoplasty，包括平行、趋同和逆转演化）水平随每一位点变化的可能性的增加而提高；2）相当一部分位点不能被正确地排序。由于同源位点的排序是系统分析的前提，因此那些排序不确定的位点最好是从分析中删除（Swofford & Olsen，1990）。

Olmstead & Palmer（1994）强调，选择一个序列进行系统发育分析，通常要考虑到以下问题：1）这个序列要足够长，以提供足够的带有系统发育信息的核苷酸位点，且所选序列的差异百分率必须适于所要解决的系统问题。一般认为所比较的分类群间的序列差异率在 5% – 15%间最为合适，这时既可使性状间的多次置换降至最低，又能提供足够数量的性状（Ritland & Clegg，1990）；2）此序列必须易于排序，这对性状同源性的正确评价是十分必要的；3）此序列必须是直系同源（orthologous）的。用于系统发育分析的许多核基因存在一个严重的问题即区分直系同源（与生物体系统发育有关的基因）和异系同源（paralogous，基因组内与基因重复有关的基因）（Sanderson & Doyle，1991；Doyle，1992）。叶绿体不存在这个问题，只要基因保留在叶绿体基因组内，所有的基因均为单拷贝。

1　核基因组（nDNA）

由于核基因组结构又大又复杂，大部分核基因中又存在直系同源和异系同源拷贝，使得核基因的应用也复杂化。目前对核基因组序列的应用主要集中在编码核糖体 RNA 的重复区（nrDNA）内。

1.1　核核糖体 DNA（nrDNA）

植物体中，核糖体广泛存在于叶绿体、线粒体和细胞质中，由大小两个亚基组成，每个亚基又由 rRNA（核糖体 RNA）及其相关蛋白构成。植物细胞核中编码 rRNA 的基因是一些高度重复序列组成的多基因家族，其中编码核糖体小亚基 rRNA 的 18S 基因与 5.8S、26S 基因共同构成一转录单位（transcription unit），又称顺反子（cistron），其中 18S 与 5.8S，5.8S 与 26S 间的基因间区分别称为内转录间隔区（ITS）1 和 2。顺反子高度重复（几百至

几千次)，以串联的方式排列于核染色体上（Appels-& Honeycutt，1986)，由于拷贝间足够快的一致进化，这些核糖体 RNA 顺反子拷贝表现出高度的均一性（homogeneity）（Brown 等，1972；Arnheim 等，1980)。在高等植物中，nrDNA 的编码区序列高度保守（不同纲、目间的同源率可达 90%以上)，序列差异主要表现在 ITS、ETS 及 IGS 等非编码区上。因此 rDNA 的编码区（18S、5.8S 及 26S）序列一般用于高级阶元的系统发育研究，而非编码区（ITS、ETS 及 IGS）序列常用于较低分类阶元的系统学研究。

1.1.1 18S 基因：真核生物基因中，18S 基因编码核糖体小亚基的 18S RNA，其序列长约 1850bp。Nickrent & Soltis（1995）在对 18S 与 *rbc*L 序列的比较研究中发现，通过被子植物 59 个类群的成对序列的比较，*rbc*L 的变异率总的来说约是 18S 的 3 倍，但由于 18S 序列比 *rbc*L 长约 400bp，*rbc*L 所提供的系统发育信息位点数只大约是 18S 的 1.4 倍。研究表明：18S 序列对于被子植物内高级分类水平上（科及科以上）的系统发育研究可提供较多的信息，其序列变异程度尤其适于探讨被子植物乃至种子植物内部的深度系统发育分支间的关系。同时，由于在不同类群间序列的变异程度有所差异，18S 有时也可用于亚科或属间关系的重建，如檀香目 Santalales 及其它寄生植物，其 18S 基因的进化速率明显快于在其它被子植物中的速度（Nickrent & Franchina，1990；Nickrent & Starr，1994)。

1.1.2 ITS（内转录间隔区)：18S－26S 核核糖体 DNA（nrDNA）的内转录间隔区 ITS（Internal transcribed spacer）被 5.8S 分为 ITS1 和 ITS2 两部分，其转录物（transcript）不加入成熟核糖体，只是部分地对 nrDNA 的成熟起作用（Baldwin 等，1995)。目前，ITS 可能是分子系统学研究中应用最为广泛的基因之一。

ITS 序列在裸子植物中变异很大，尤其是长度变异非常显著，因此一般认为 ITS 不适用于裸子植物的系统发育研究（Karvonen，1995；汪小全和洪德元，1997)。但在被子植物中，ITS 区既具有核苷酸序列的高度变异性又有长度上的保守性，说明这些间隔区的序列很容易在近缘类群间排序，而且丰富的变异可在较低的分类阶元上（如属间、种间）解决植物系统发育问题。屈良鹄和陈月琴（1999）通过对不同生物类群的 ITS 序列（自生物学数据库）的比较得出：被子植物大多数科属其 ITS 序列的种间差异值为 1.2－10.2%，属间差异值为 9.6－28.8%，这对系统发育研究来说都是较合适的范围。另外，ITS 在一些起源古老（如 *Viburnum*、*Nothofagus* 及 Winteraceae 的一些属）或世代较长的植物类群（如木本竹子）中的变异较低（Baldwin 等，1995；Hodkinson 等，2000；Guo 等，2001)，也为研究那些间隔区进化速度很慢的古老类群间的关系和长世代类群内较高阶元的系统重建提供了可能性。

通常，ITS 在研究属内种间和较近的族间、属间关系时都表现出较高的趋异率和信息位点百分率，为类群内部的系统重建提供了较好的支持（如：Baum 等，1998；Downie 等，2000a；Schwarzbach & Ricklefs，2000；Stanford 等，2000；Xiang 等，1998)；另外，ITS 序列对于揭示异域或间断分布居群间的关系也具有潜力（Baldwin，1993；Widmer & Baltisberger，1999)。

1.1.3 ETS（外转录间隔区）及 IGS（基因间区)：nrDNA 重复单位中的外转录间隔区 ETS（External transcribed spacer）位于 18S 基因的上游，其长度在不同类群间的变异较大，一般在 0.8－1.1kb 之间，虽然 ETS 的进化速率与 ITS 相似，甚至更快，但由于上游与高变的

IGS 相连，难以找到合适的通用引物扩增整个区域，故用于系统学研究的例子较少，一些作者认为这一片段对于那些仅靠 ITS 片段尚不能提供足够变异的年轻分支（young lineages）内的研究可给予一定的帮助（Baldwin & Markos，1998；Clevinger & Panero，2000）。

另外，位于 nrDNA 重复序列间的非编码区 NTS（Nontranscribed spacer）或称基因间区 IGS（Intergenic spacer），是 nrDNA 中进化最快的片段之一（Hoshikawa 等，1983），因此推测在近缘类群间的系统学研究、杂交研究及居群遗传学研究上具有一定的应用潜力（Hillis & Dixon，1991）。

1.2　其它核基因组序列

随着探索其它核基因组序列在植物系统发育重建研究中应用的深入，如 waxy 内含子（Mason-Gamer & Kellogg，1996；Peralta 等，1997）、多聚半乳糖醛酸酶（Atkinson 等，1997）、谷氨酰胺合成酶的内含子及外显子（Doyle & Doyle，1997）、rpb2（Denton 等，1996）、乙醇脱氢酶（Miller & Dennis，1996；Morton 等，1996；Sang 等，1997b）、光敏色素（Mathews 等，1995，2000）、组蛋白 H3 内含子（Doyle 等，1996）和小热激蛋白编码基因（Waters，1995）等等，为针对特定的系统发育问题的研究提供了更多的可供选择的 DNA 序列（但多为多基因家族）。

2　叶绿体基因组（cpDNA）

植物叶绿体基因组（cpDNA）为闭环双链 DNA，约占植物总 DNA 的 10－20%，长度一般为 120－220 kb（多在 120－160 kb 之间），其长度变异主要由 2 个反向重复序列（IR）引起。这 2 个反向重复序列长约 22－25 kb，将整个 cpDNA 分为一个大单拷贝区（LSC）和一个小单拷贝区（SSC）（如图 1）。随着 DNA 序列研究的蓬勃发展，植物叶绿体基因组因具有下列特性，为序列比较分析提供了便利的条件（Clegg 等，1994），并逐渐成为分子进化和分子系统学研究的焦点：1）基因组较小，但包含大量的 DNA 成分；2）在分子水平上的差异明显，为比较进化研究提供了基本的信息支持；3）编码区和非编码区序列进化速率相差较大，适于不同分类阶元的系统发育研究。但同时由于 cpDNA 是单亲遗传（Uni-parentally inherited），因此并不能解释所有的系统发育问题，如研究类群间的杂交或渐渗现象（introgression）。

2.1　编码基因

叶绿体编码区的核酸替代速率相对较低，为植物深层系统进化研究提供了合适的途径。目前，除 *rbc*L 基因外，越来越多的 cpDNA 编码基因（如 *mat*K、*ndh*F、*atp*B 等）被广泛应用于不同科、目乃至整个被子植物的系统发育研究中（适于系统发育研究的主要叶绿体基因见表 1）。选择多基因结合做系统发育研究成为一发展趋势，如 Graham & Olmstead（2000）结合叶绿体的 17 个基因片段对被子植物基部类群的系统发育重建进行了研究，其主要分支间的关系得到了较好的解决。

2.1.1　*rbc*L 基因：编码 1，5－二磷酸核酮糖羧化酶/氧化酶大亚基的 *rbc*L 基因位于植物 cpDNSA 的大单拷贝区，长约 1400bp，Ritland 和 Clegg（1987），Zurawski 和 Clegg（1987）首先提出 *rbc*L 基因是用于系统发育研究的合适的基因位点。随着对 *rbc*L 基因研究的深入，如结构、功能（Kellogg & Juliano，1997）、进化速率（Bousquet 等，1992）及其在植物不同

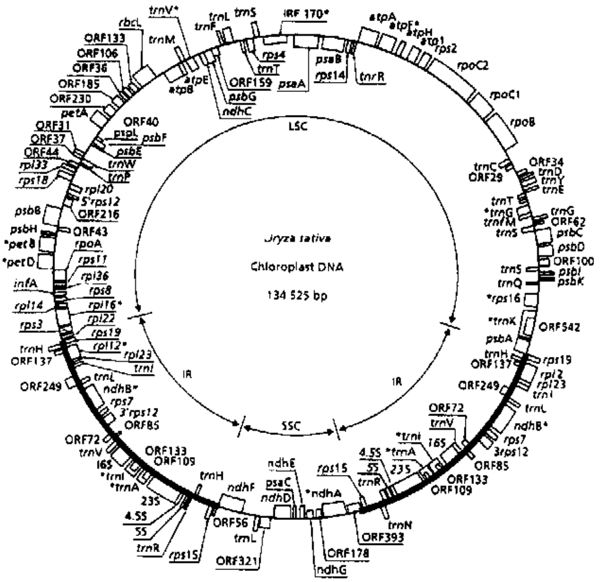

图1 水稻的叶绿体基因组（引自 Kendrew，1994），星号表示断裂基因，“ tm ”代表转录 tRNA 的基因。

Fig. 1 The chloroplast genome (cpDNA) of rice (*Oryza sativa*) (From Kendrew, 1994). Split genes are denoted by asterisks and tRNAs by“ tm ”.

分类阶元中的系统学意义（Kellogg & Juliano，1997）**等等，***rbc*L **成为植物分子系统学研究中应用最普遍的基因之一。**

虽然 *rbc*L **基因在不同植物类群中的进化速率有着较大的差异**（Bousquet **等**，1992），**但总的来说相对保守（如烟草和水稻的** *rbc*L **基因的核苷酸相似性为** 93%），**为植物较高分类阶元的系统发育历史的重建研究提供了一重要的性状来源，并得到了很好的启发性的研究结果。迄今为止，***rbc*L **基因序列已用于许多分类群的系统发育研究，从科内（多为远缘属间）（如** Xiang **等**，1993；Fay & Chase，1996；Sheahan & Chase，1996；Morton **等**，1997；Richardson **等**，2000；Schwarzbach & Ricklefs，2000）**到有花植物主要谱系间**（Olmstead **等**，1992），**甚至于整个蕨类**（Hasebe **等**，1995）、**种子植物谱系间的关系**（Chase **等**，1993）。

与进化速率快的基因相比，*rbc*L **基因与其它进化较慢的** cpDNA **序列常被广泛应用于较远类群的系统学研究中，但用** DNA **序列研究远缘相关类群常会遇到以下两个问题**（Olmstead & Palmer，1994）：（1）**所选编码序列的各核苷酸位点的替代速率不一致。如** *rbc*L **基因的同义替代率比非同义替代率大约高** 15 **倍，但这一缺陷可以将** DNA **序列翻译成蛋白，进而比较其氨基酸序列的方法予以弥补（表** 1）。（2）**在主要植物分支间关系的研究中，许多关键问题常会涉及到早期植物在一较短的时间里发生了怎样的分化，而进化慢的基因相对于进化快的基因在这一分化时期未能发生足够的碱基替代，故对所发生的分支进化不能提供足够的重建信息，但将分子与形态数据结合起来分析，会对系统重建研究有所帮助。**

2.1.2 *mat*K **基因：***mat*K（orfK）**基因位于叶绿体** *trn*K **基因的内含子中，长约** 1550bp，**编**

表 1　适用于系统学研究的叶绿体基因*

Table 1　Chloroplast genes suitable for phylogenetic study*

Gene	Length[1]	% AA Sim.[2]	Substitution rate Ko[3]	K_A[4]	K_s[5]
16s rRNA	1489	97[6]	3	Na	Na
23s rRNA	2810	94[6]	4	Na	Na
*psb*A	1062	99	11	1	45
*psb*D	1062	98	12	1	49
*psa*B	2205	97	12	1	51
*psb*B	1527	97	14	2	54
*psb*C	1422	97	12	1	48
*psa*A	2253	96	13	2	52
*rbc*L	1434	93	17	4	63
*atp*B	1497	92	18	4	62
*ndh*A	1182	89	19	6	71
*atp*A	1524	88	18	7	54
*ndh*D	1530	82	21	9	65
*rpo*B	3213	81	18	9	51
*rpo*C1[7]	2046	78	24	12	69
*ndh*A[7]	1095	76	25	10	75
*rpo*A	1014	69	27	18	62
*ndh*F	2133	67	31	19	76
*rpo*C2	4167	64	26	17	61
*mat*K（*orf*K）	1530	59	37	26	82

* 引自 Olmstead & Palmer，1994；From Olmstead & Palmer，1994.

1 烟草中的碱基对数目（含终止内含子）；In base pairs in tobacco including termination codon. 2 烟草与水稻相比；Between tobacco and rice. 3 总核苷酸替代率（烟草与水稻相比）；Overall nucleotide substitution rate，based on comparison of rice and tobacco. 4 非同义替代率；Nonsynonymous nucleotide substitution rate. 5 同义替代率；Synonymous nucleotide substitution rate. 6 核苷酸相似性百分比；Percent nucleotide similarity. 7 含一大的内含子；Contains single large intron.

码一种参与 RNA 转录体中 II 型内含子剪切的成熟酶（Neuhause & Link，1987），是叶绿体基因组的蛋白编码区中进化最快的基因之一（Wolfe，1991）。与其它序列相比，*mat*K 基因的进化速率大约是 *rbc*L 的 2 ~ 3 倍（Crayn，1998；Gadek 等，2000）；*ndh*F 序列的 1.3 倍；但却慢于 ITS 序列，一般是 ITS 序列的一半左右（Johnson & Soltis，1995）。在科级、属级水平，*mat*K 序列分析为研究类群内部的系统重建提供了较多的信息和高的支持率（Johnson & Soltis，1994，1995；Plunkett 等，1997；Kron，1997；Hu 等，2000）。在某些类群中，*mat*K 序列的核苷酸变化也为种间、种下的系统研究提供了一定的价值（Xiang 等，1998；Stanford 等，2000；Ohsako & Ohnishi，2000）。

2.1.3　*ndh*F 基因：*ndh*F 基因位于叶绿体基因组的小单拷贝区，编码假定的叶绿体 NADH 脱氢酶的一个亚基，在烟草中长 2223bp（Olmstead 等，1993），但在不同类群间由于插入/缺失突变常引起长度上的变异。研究发现，*ndh*F 基因长度一般是 *rbc*L 的 1.5 倍，但核苷酸替代速率约是 *rbc*L 的 2 倍（Suguira，1989；Wolfe，1991；表 1），因此能比 *rbc*L 基因更好地解决科内系统关系的研究（Scotland 等，1995；Smith & Carroll，1997；Prather 等，2000）。另外，一些学者也成功地利用 *ndh*F 基因阐述了一些类群在科间水平的系统发育关系（如 Clark 等，1995；Smith 等，1997；Backlund 等，2000）。

2.1.4　*atp*B 基因：*atp*B 基因位于叶绿体基因组的大单拷贝区，编码 *ATP* 合成酶（*ATP* synthase）的 β 亚基（Zurawski 等，1982；Gatenby 等，1989），两边毗邻 *atp*E 和 *rbc*L 基因。*atp*B 基因的许多特性使其在较高分类阶元的比较序列研究中具有一定的价值，如其长度

一般为1497bp，既容易被测序，又可以提供足够的潜在的系统发育信息。另外，此基因序列较为保守，在玉米和烟草间的 K_s 值为0.62，对于 *rbc*L 基因则为0.63（Li 等，1985；Wolfe，1991；表1），由此显示，*atp*B 与 *rbc*L 基因的进化速率非常相似。

2.2 cpDNA 非编码区

近年来，cpDNA 非编码区（包括内含子和基因间区）序列的测定在植物不同分类阶元的系统研究中被越来越广泛地应用起来（Small 等，1998）。与许多编码基因相比，这些非编码区因其在功能上的限制较少，无论是在核酸替代还是插入/缺失突变的积累上，都表现出更快的进化速率；与相当长度的编码区片段相比，这些非编码区能提供更多的具系统学意义的信息位点，故多用于较低分类阶元及近期分化类群间的系统学研究中（Clegg 等，1994；Downie 等，2000b）。

2.2.1 cpDNA 内含子：内含子（intron）位于编码基因的内部，其转录序列在转录后加工过程中被切除，而不参加翻译过程。在烟草叶绿体基因组的79个假定蛋白编码区和30个 tRNA 基因中，有18个含有内含子，其中6个被内含子切断的基因是编码 tRNA 的，其余12个位于蛋白编码基因中。

*rpL*16 内含子：叶绿体中编码核糖体蛋白的 *rpL*16 基因位于大多数植物叶绿体基因组的大单拷贝区，由两个外显子和中间一段相对较长的 II 型内含子组成。其内含子序列的差异主要体现在长度上，从地钱（*Marchantia polymorpha*）的536bp（Ohyama 等，1986）到少根紫萍（*Spirodela oligorhiza*）的1400bp（Posno 等，1986）变化不等，但在大多数被子植物中，其长度一般为1kb 左右（Doyle 等，1995）。Downie 等（1996）通过对烟草和水稻中的17种叶绿体内含子的相似性比较认为：*rpL*16 是 cpDNA 中进化速率最快的内含子；Small 等（1998）在对近期分化类群 *Gossypium*（棉属，锦葵科）的 cpDNA（包括3个内含子：*rpL*16、*rpoC*1 和 *ndhA* 及4个基因间区：*accD-psaI*、*trnL-trnF*、*trnT-trnL* 和 *atpB-rbcL*）和核编码的 *Adh* 基因家族及 ITS 序列的比较研究中，也支持 *rpL*16 内含子在 cpDNA 中相对快的进化速率。

作为 cpDNA 中进化最快的内含子之一，*rpL*16 内含子在远缘类群间的长度变异非常明显，使得较为确定的排序几乎是不可能的，因此 *rpL*16 内含子一般用于较低分类阶元或近缘类群间（如种间、近缘属间）及较晚分化的类群间（如0.5－2百万年前）的系统发育研究（Jordan 等，1996；Baum 等，1998；Schnakel & Wendel，1998；Small 等，1998；Downie 等，2000b），但其所能提供的系统学信息都明显低于 nrDNA 的 ITS 片段。在竹子中，*rpL*16 内含子一般只适于解决属级以上分类水平的系统发育（成对序列趋异范围在0－8.2%之间）（Kelchner & Clark，1997），但证据显示，与禾本科中许多其它类群相比，木本竹子 cpDNA 的编码区序列的进化速率相对较慢（Zhang，1996；Gaut 等，1997），因此推断 *rpL*16 内含子在其它植物类群中应该更适用于较低阶元的系统分析。

*rps*16 内含子：编码核糖体蛋白 S16 的 *rps*16 基因位于植物 cpDNA 大单拷贝区（Neuhaus 等，1989），但在某些科的代表种中部分或完全缺失，如牛栓藤科（Connaraceae）、杜仲科（Eucommiaceae）、壳斗科（Fagaceae）、亚麻科（Linaceae）及杨柳科（Salicaceae）等等（Downie & Palmer，1992；Doyle 等，1995）。该基因常被一个 II 型内含子分割为两部分，此内含子长度从707bp 到951bp 变化不等（Downie & Palmer，1992；Oxelman 等，1997）。

总的来说，*rps*16 内含子的进化速率与多数已报道的内含子相近，其中 *rpoC*1 内含子与其最为相似（Downie & Katz-Downie，1999）。资料显示，*rps*16 内含子一般适用于较高分类阶元的系统发育研究，但其变异的大小还不足以解决属下，特别是近代分化类群的系统关系（Small 等，1998）。在木犀科（Oleaceae），它甚至不能很好地解决族间的关系（Wallander & Albert，2000）。

*rpoC*1 内含子：与 *E. coli* RNA 聚合酶 β' 亚基同源的 *rpoC* 区域位于大多数被子植物叶绿体基因组的大单拷贝区，分为 *rpoC*1 和 *rpoC*2 两个基因（图 2），这两个基因与 *rpoB* 基因共同编码叶绿体 RNA 聚合酶的 3 个亚基，其中在大多数被子植物中，*rpoC*1 被一内含子分割为两个部分（Hudson 等，1988），但水稻等少数植物的 *rpoC*1 基因不含内含子（Hiratsuka 等，1989）。

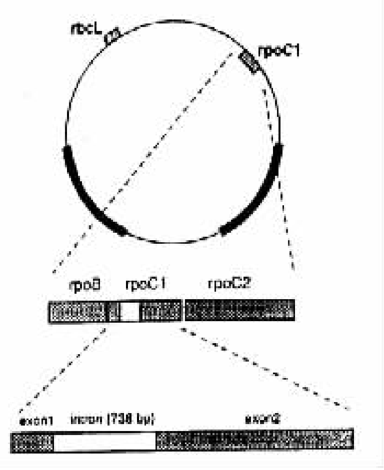

图 2　烟草基因组上 *rpo*C1 基因及其内含子与 *rbc*L、*rpo*B、*rpo*C2 的相对位置。加粗部分为 25.3 kb 的反向重复序列（引自 Downie 等，1996）.

Fig. 2　Location of the *rpo*C1 gene and its intron in the tobacco chloroplast genome and its placement relative to the gene *rbcL* and cotranscribed ribosomal polymerase genes *rpo*B and *rpo*C2. The thickened parts of the circle represent the 25.3 kb inverted repeat region (From Downie *et al*, 1996).

Downie 等（1996）通过对伞形科（Apiaceae）芹亚科（Apioideae）的 25 个种（7 族，8 亚族）及外类群的 *rpoC*1 内含子序列分析，发现 *rpoC*1 内含子虽然能为外类群和 Apioideae 的远缘类群间的系统关系提供有价值的信息，但却不能为近缘分类群间的关系重建提供足够的信息。与 ITS 和 *rpL*16 内含子相比，*rpoC*1 内含子的进化速率在本亚科远远低于前两者（约为 ITS 的 1/4，*rpL*16 内含子的一半）（Downie & Katz-Downie，1996；Downie 等，2000b）。

2.2.2　cpDNA 基因间区：叶绿体基因间的间区部分不参加转录翻译过程，因而在功能上的限制较少，变异较为自由，比编码基因能提供更多的系统发育信息。目前用于系统学研究的叶绿体基因间区主要有：1）*atpB-rbcL*：一般长约 900bp，多用于科间（Renner，1999；Savolainen 等，1994，1997），族间或属间（Manen 等，1994；Manen & Natali，1995；Natali 等，1995；Schwarzbach & Ricklefs，2000）；2）*trnC-rpoB*：长约 1200bp，用于种及种下系统

（Ohsako & Ohnishi，2000）；3）*psbA-trnH*：长约300bp，其进化速率在芍药属（*Paeonia*）大大快于*mat*K基因，但稍慢于ITS，可用于组间及种间的发育研究（Sang等，1997a）；4）*accD-rbcL*：长度及结构变异较大，预测在较低分类阶元的系统发育分析中有一定的应用价值，如在蓼科荞麦属*Fagopyrum*，其进化速率（包括部分*accD* 5’编码区）大约是*rbc*L基因编码区的5倍，较好地解决了属内种间的系统关系（Yasui & Ohnishi，1998）。

*trnL-F*非编码区：编码转运RNA（transfer RNA）的trnL基因位于cpDNA的大单拷贝区，中间被一长约390－615bp的内含子分隔为两部分（Taberlet等，1991），一般认为此片段序列较短，所能提供的信息性状较少，且在结构上与*trnF*基因相邻（两基因间有一长约160－440bp的基因间区），故这两个非编码区序列常结合在一起被测定分析。

资料显示，这一结合区域的进化速率与其它叶绿体的非编码区相比，并不属于较快的一类，且大大慢于*rpL*16内含子或*trnT-L*基因间区（Small等，1998）。与ITS序列相比，ITS的替代速率平均是整个*trnL-F*非编码区的2－3倍（Gielly等，1996；Molvray ，1999）；而与*rbc*L相比，此非编码区的进化速率则平均是*rbc*L基因的3倍以上（Gielly & Taberlet，1994）。研究表明，这一区域在一定分类水平上适用于系统关系重建，如近缘科间、亚科间、族间或属间（Richardson等，2000；Bayer等，2000；Gielly等，1996；Mes等，1997），但在大多数情况下，这一区域的序列变化并不足以解决种间关系。

*trnT-trnL*间区：编码转运RNA的*trnT*和*trnL*基因间有一较长的基因间区（一般在600－1400bp之间）。资料显示：这一间区在cpDNA中属于分子进化速率较快的非编码区序列（Small等，1998；Böhle等，1994；Renner，1999）。Small等人（1998）在对叶绿体中的几个非编码区（包括*trnT-trnL*间区）和核ITS序列、*Adh*基因的核苷酸替代速率进行比较时发现，包括*trnT-trnL*间区在内的3个基因间区在PCR扩增中或不能产生足够的测序模板或已知的扩增引物不适于测序，虽然他们用克隆的方法克服了上述问题，但大大增加了实验的工作量和复杂性，这也许也是*trnT-trnL*间区虽然有较大的变异（在*trnT-trnF*区段中变异最大）和应用潜力却很少被用于系统学研究中的原因之一。

3 线粒体基因组（mtDNA）

目前，对植物线粒体基因组的了解较少，其最主要的特征就是存在一些重复序列。已完整测序的苔藓植物地钱的线粒体基因组（Oda等，1992）含有90个基因，包括3个rRNA基因，27个tRNA基因和约60个蛋白编码基因。被子植物线粒体基因组在大小、结构和基因次序上变异很大（Newton，1988；Palmer，1990，1992），但沉默置换（silent subtitution）吉率远远小于植物的其它基因组和动物线粒体基因组（Wolfe等，1987），因而植物线粒体基因的比较测序可能在解释植物系统发育的深层分支时会起一定的作用。随着对拟南芥全基因组测序的完成，人们对被子植物线粒体基因组的认识也在增加，正如Olmstead & Palmer（1994）所预测，植物线粒体基因组因具有已知任何主要真核基因组中最低的同义置换率，已被发展用于研究陆生植物早期分化问题。现用于这一研究领域及比较系统发育分析的线粒体基因主要有：19S rDNA（Duff & Nickrent，1999）、*cox*3（Hiesel等，1994；Bowe & dePamphilis，1996；Malek等，1996）、*nad*5（Wang等，2000）和matR基因（Meng等，2001，2002）。

虽然同一 DNA 序列在不同分类群间的进化速率有所差异（有时甚至相差很远），但序列本身在植物系统学的研究中总有一相对稳定的适用范围。随着分子序列数据的积累和新的序列性状的开发，相信人们总能找到适用的分子标记来研究相应类群的系统关系。但不可否认，这些分子片段也仅仅是分类群诸多性状的一个来源，它虽能为分类群的系统重建提供不可忽视的发育信息，但也并不能完全地反映其真实的演化历史。因此，愈来愈多的学者开始注重将多个不同来源或不同功能的适用 DNA 序列相互结合，或与传统的形态性状结合起来共同分析，以期获得更多的发育信息，进而得到更接近真实系统发育历史的研究结果。

〔参　考　文　献〕

Appels R，Honeycutt RL，1986. rDNA：Evolution over a billion years，in Dutta S K，［ed.］，DNA Systematics Vol. II Plants［M］. CRC Press，Boca Raton，Florida，81—135

Arnheim N，Krystal M，Schmickel R，*et al*，1980. Molecular evidence for genetic exchanges among ribosomal genes on nonhomologous chromosomes in man and apes［J］. *Proc Natl Acad USA*，**77**：7323—7327

Atkinson RG，Cipriani G，Whittaker DJ，*et al*，1997. The allopolyploid origin of kiwifruit，*Actinidia deliciosa*（Actinidiaceae）［J］. *Plant Syst Evol*，**205**：111—124

Backlund M，Oxelman B，Bremer B，2000. Phylogenetic relationships within the Genticnales based on *ndhF* and *rbcL* sequences，with particular reference to the Loganiaceae［J］. *Amer J Bot*，**87**：1029—1043

Baldwin BG，1993. Molecular phylogenetics of *Calycadenia*（Compositae）based on ITS sequences of nuclear ribosomal DNA：Chromosomal and morphological evolution reexamined［J］. *Amer J Bot*，**80**：222—238

Baldwin BG，Markos S，1998. Phylogenetic utility of the external transcribed spacer（ETS）of 18S – 26S rDNA：congruence of ETS and ITS trees of *Calycadenia*（Compositae）［J］. *Mol Phylogenet Evol*，**10**：449—463

Baldwin BG，Sanderson MJ，Porter JM，*et al*，1995. The ITS region of nuclear ribosomal DNA：A valuable source of evidence on angiosperm phylogeny［J］. *Ann Missouri Bot Gard*，**82**：247—27

Baum DA，Small RL，Wendel JF，1998. Biogeography and floral evolution of Baobabs（Adansonia，Bombacaceae）as inferred from multiple data sets［J］. *Syst Biol*，**47**：181—207

Bayer RJ，Puttock CF，Kelchner SA，2000. Phylogeny of South African Gnaphalieae（Asteraceae）based on two non-coding chloroplast sequences［J］. *Amer J Bot*，**87**：259—272

Bousquet J，Strauss SH，Doerksen AH，1992. Extensive variation in evolutionary rate of *rbcL* gene sequences among seed plants［J］. *Proc Natl Acad Sci USA*，**89**：7844—7848

Bowe LM，dePamphilis CW，1996. Effects of RNA editing and gene processing on phylogenetic reconstruction［J］. *Mol Biol Evol*，**13**：1159—1166

Böhlee UR，Hilger H，Cerff R，*et al*，1994. Noncoding chloroplast DNA for plant molecular systematics at the infrageneric level，in Schierwater B，Streit B，Wagner GP，*et al*. ［eds.］，Molecular ecology and evolution：approaches and applications［M］，Birkhöuser Verlag Basel，391—403

Brown DD，Wensink PC，Jorden E，1972. A comparison of the ribosomal DNA's evolution of tandem genes［J］. *J Molec Biol*，**63**：57—73

Chase MW，Soltis DE，Olmstead RG，*et al*，1993. Phylogenetics of seed plants：An analysis of nucleotide sequences from the plastid gene rbcL［J］. *Ann Missouri Bot Gard*，**80**：528—580

Clark LG，Zhang W，Wendel JF，1995. A phylogeny of the grass family（Poaceae）based on *ndh*F data［J］. *Syst Bot*，**20**：436—460

Clegg MT，Gaut BS，Learn GH，*et al*，1994. Rates and patterns of chloroplast DNA evolution［J］. *Proc Natl Acad Sci USA*，**91**：

6795—6801

Clevinger JA，Panero JL，2000. Phylogenetic analysis of Silphium and subtribe Engelmanninae（Asteraceae：Heliantheae）based on ITS and ETS sequence data［J］. *AmerJ Bot*，**87**：565—572

Crayn DM，1998. Systematics of Epacridaceae. Ph. D. Dissertation［M］. University of New South Wales，Sydney，Australia

Curtis，SE，and MT Clegg，1984. Molecular evolution of chloroplast DNA sequences［J］. *Mol Biol Evol*，**1**：291—301

Denton AL，Hall BD，McConaughy BL，1996. *rpb*2，a nuclear gene for tracing angiosperm phylogeny［J］. *Amer J Bot*，**83**S：150

Downie SR，Katz-Downie DS，1996. A molecular phylogeny of Apiaceae subfamily Apioideae：Evidence from nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences［J］. *Amer J Bot*，**83**：234—251

Downie SR，Katz-Downie DS，1999. Phylogenetic analysis of chloroplast *rps*16 intron sequences reveals relationships within the woody southern African Apiaceae subfamily Apioideae［J］. *Gan J Bot*，**77**：1120—1135

Downie SR，Katz-Downie DS，Cho K-J，1996. Phylogenetic analysis of Apiaceae subfamily Apioideae using nucleotide sequences from the chloroplast *rpo*C1 intron［J］. *Mol Phylogenet Evol*，**6**：1—18

Downie SR，Katz-Downie DS，Spalik K，2000a. A phylogeny of Apiaceae tribe Scandiceae：evidence from nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences［J］. *Amer J Bot*，**87**：76—95

Downie SR，Katz-Downie DS，Watson MF，2000b. A phylogeny of the flowering plant family Apiaceae based on chloroplast DNA *rpl*16 and *rpoC*1 intron sequences：towards a suprageneric classification of subfamily Apioideae［J］. *Amer J Bot*，**87**：273—292

Downie SR，Palmer JD，1992. Use of chloroplast DNA rearrangements in reconstructing plant phylogeny，in Soltis PS，Soltis DE，Doyle JJ［eds.］，Molecular Systematics of Plants［M］，Chapman and Hall，New York，NY，14—35

Doyle JJ，1992. Gene trees and species trees：Molecular systematics as one-character taxonomy［J］. *Syst Bot*，**17**：144—163

Doyle JJ，Doyle JL，1997. The cytosolic glutamine synthetase gene family in Leguminosae：Gene phylogeny and evolution of its role in nodulation［J］. *Amer J Bot*，**84**S：188

Doyle JJ，Doyle JL，Palmer JD，1995. Multiple independent losses of two genes and one intron from legume chloroplast genomes［J］. *Syst Bot*，**20**：272—294

Doyle JJ，Kanazin V，Shoemaker RC，1996. Phylogenetic utility of histone H3 intron sequences in the perennial relatives of soybean（*Glycine*：Leguminosae）［J］. *Mol Phylogenet Evol*，**6**：438—447

Duff RJ，Nickrent DL，1999. Phylogenetic relationships of land plants using mitochondrial small-subunit rDNA sequences［J］. *Amer J Bot*，**86**：372—386

Fay MF，Chase MW，1996. Resurrection of Themidaceae for the Brodiea alliance，and recircumscription of Alliaceae，Amaryllidaceae and Agapanthoideae［J］. *Taxon*，**45**：441—451

Gadek PA，Alpers DL，Heslewood MM，*et al*，2000. Relationships within Cupressacea sensu lato：a combined morphological and molecular approach［J］. *Amer J Bot*，**87**：1044—1057

Gatenby AA，Rothstein SJ，Nomura M，1989. Translational coupling of the maize chloroplast *atp*B and *atp*E genes［J］. *Proc Natl Acad Sci USA*，**86**：4066—4070

Gaut BS，Clark LG，Wendel JF，*et al*，1997. Comparison of the molecular evolutionary process at *rbcL* and *ndhF* in the grass family（Poaceae）［J］. *Mol Biol Evol*，**14**：769—777

Gielly L，Taberlet P，1994. The use of chloroplast DNA to resolve plant phylogenies：Noncoding versus *rbc*L sequences［J］. *Mol Biol Evol*，**11**：769—777

Gielly L，Yuan Y-M，Küpfer P，*et al*，1996. Phylogenetic use of noncoding regions in the Genus Gentiana L.：Chloroplast *trn*L（UAA）intron versus nuclear ribosomal internal transcribed spacer sequences［J］. *Mol Phylogenet Evol*，**5**：460—466

Graham SW，Olmstead RG，2000. Utility of 17 chloroplast genes for inferring the phylogeny of the basal angiosperms［J］. *Amer J Bot*，**87**：1712—1730

Guo Z-H，Chen Y-Y，Li D-Z，*et al*，2001. Genetic variation and evolution of the Alpine Bamboos（Poaceae：Bambusoideae）using DNA sequence data［J］. *J Pl Res*，**114**：315—322

Hasebe M，Wolfe PG，Pryer KM，*et al*，1995. Fern phylogeny based on rbcL nucleotide sequences［J］. *Fern J*，**85**：134—181

Hiesel R，Haeseler AV，Brennicke A，1994. Plant mitochondrial nucleic acid sequences as a tool for phylogenetic analysis［J］. *Proc*

Natl Acad Sci USA，**91**：634—638

Hillis DM，and MT Dixon，1991. Ribosomal DNA：Molecular evolution and phylogenetic inference [J]. *Quart Rev Biol*，**66**：411—453

Hiratsuka J，Shimada H，Whittier R，*et al*，1989. The complete sequence of the rice（*Oryza sativa*）chloroplast genome：intermolecular recombination between distant tRNA genes accounts for a major plastid DNA inversion during the evolution of the cereals [J]. *Mol Gen Genet*，**217**：185—194

Hodkinson TR，Renvoize SA，Chonghaile G，*et al*，2000. A comparison of ITS nuclear rDNA sequence data and AFLP markers for phylogenetic studies in *Phyllostachys*（Bambusoideae，Poaceae）[J]. *J Pl Res*，**113**：259—269

Hoshikawa Y，Iida Y，Iwabuchi M，1983. Nucleotide sequence of the transcriptional initiation region of *Dictyostelium discoideum* rRNA gene and comparison of the genes [J]. *Nucleic Acids Res*，**11**：1725—1734

Hu J-M，Lavin M，Wojciechowski MF，*et al*，2000. Phylogenetic systematics of the tribe Millettieae（Leguminosae）based on chloroplast *trnK/matK* sequences and its implications for evolutionary patterns in Papilionoideae [J]. *Amer J Bot*，**87**：418—430

Hudson GS，Holton TA，Whitfeld PR，*et al*，1988. Spinach chloroplast *rpoB* C genes encode three subunits of the chloroplast RNA polymerase [J]. *J Mol Biol*，**200**：639—654

Johnson LA，Soltis DE，1994. MatK DNA sequences and phylogenetic reconstruction in Saxifragaceae s. s [J]. *Syst Bot*，**19**：143—156

Johnson LA，Soltis DE，1995. Phylogenetic inference in Saxifragaceae sensu stricto and Gilia（Polemoniaceae）using *mat*K sequences [J]. *Ann Missouri Bot Gard*，**82**：149—175

Jordan WC，Courtney MW，Neigel JE，1996. Low levels of intraspecific genetic variation at a rapidly evolving chloroplast DNA locus in North American duckweeds（Lemnaceae）[J]. *Amer J Bot*，**83**：430—439

Karvonen P，1995. Genetic variation and structure of ribosimal DNA（rDNA）in *Scots pine and Norway spruce* [J]. *Acta University Ovluensis Series A Scientiae Rerum Naturalium*，**10**：1—68

Kelchner SA，Clark LG，1997. Molecular evolution and phylogenetic utility of the chloroplast *rpL*16 intron in *Chusquea* and the Bambusoideae（Poaceae）[J]. *Mol Phylogenet Evol*，**8**：385—397

Kellogg EA，Juliano ND，1997. The structure and function of RuBisCO and their implications for systematic studies [J]. *Amer J Bot*，**84**：413—428

Kendrew L（ed.），1994. The Encyclopedia of Molecular Biology [M]. Blackwell Science，Oxford

Kron KA，1997. Phylogenetic relationships of Rhododendroideae（Ericaceae）[J]. *Amer J Bot*，**84**：973—980

Li W-H，Wu C-I，Luo C-C，1985. A new method for estimating synonymous and nonsy nonymous rates of nucleotide substitution considering the relative likelyhood of nucleotide and coden changes [J]. *Molec Biol Evol*，**2**：150—174

Malek O，Latiig K，Hiesel R，*et al*，1996. RNA editing in bryophytes and a mmolecular phylogeny of land plants [J]. *EMBO J*，**15**：1403—1411

Manen JF，Natali A，1995. Comparison of the evolution of ribulose-1，5-bisphosphate carboxylase（*rbc*L）and *atpB-rbcL* noncoding spacer sequences in a recent plant group，the tribe Rubieae（Rubiaceae）[J]. *J Molec Evol*，**41**：920—927

Manen JF，Natali A，Ehrendorfer F，1994. Phylogeny of Rubiaceae-Rubieae inferred from the sequence of cpDNA intergene region [J]. *Plant Sys Evol*，**190**：195—211

Mason-Gamer RS J，Kellogg EA，1996. Potential utility of the nuclear gene waxy for plant phylogenetic analyses [J]. *Amer J Bot*，**83**S：178

Mathews S，Lavin M，Sharrock RA，1995. Evolution of the *phytochrome* gene family and its utility for phylogenetic analyses of angiosperms [J]. *Ann Missouri Bot Gard*，**82**：296—321

Mathews S，Tsai RC，Kellogg EA，2000. Phylogenetic structure in the grass faily（Poaceae）：evidence from the nuclear gene *phytochrome* B [J]. *Amer J Bot*，**87**：96—107

Meng SW，Chen ZD，Li DZ，*et al*，2001. Phylogeny of Saururaceae inferred from *mat*R sequence data [J]. *Acata Bot Sin*，**43**：653—656

Meng SW，Chen ZD，Li DZ，*et al*，2002. Phylogeny of Saururaceae based on mitochondrial *mat*R sequence data [J]. *J Pl Res*

(Accepted)

Mes TM, Wiejers GJ, Hart HT, 1997. Phylogenetic relationships in *Monanthes* (Crassulaceae) based on morphological, chloroplast and nuclear DNA variation [J]. *J Evol Biol*, **10**: 193—216

Miller AA, Dennis ES, 1996. The alcohol dehydrogenase genes of cotton [J]. *Plant Molec Biol*, **31**: 897—904

Molvray M, Kores PJ, Chase MW, 1999. Phylogenetic relationships within *Korthalsella* (Viscaceae) based on nuclear ITS and plastid *trnL-F* sequence data [J]. *Amer J Bot*, **86**: 249—260

Morton BR, Gaut B, Clegg MT, 1996. Evolution of alcohol dehydrogenase gene in the Palm and Grass Families [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, **94**: 2415—2420

Morton CM, Mori SA, Prance GT, *et al*, 1997. Phylogenetic relationships of Lecythidaceae: a cladistic analysis using rbcL sequence and morphological data [J]. *Amer J Bot*, **84**: 530—540

Natali A, Manen J-F, Ehrendorfer F, 1995. Phylogeny of the Rubiaceae-Rubioideae, in particular the tribe Rubieae: evidence from a non-coding chloroplast DNA sequence [J]. *Ann Missouri Bot Gard*, **82**: 428—439

Neuhaus, H, and G. Link, 1987. The chloroplast tRNA^{Lys} (UUU) gene from mustard (*Sinapsis alba*) contains a class II intron potentially coding for a maturase-related polypeptide [J]. *Curr Genet*, **11**: 251—257

Neuhaus H, Scholz A, Link G, 1989. Structure and expression of a split chloroplast gene from mustard (*Sinapsis alba*): ribosomal protein gene *rps*16 reveals unusual transcriptional features and complex RNA maturation [J]. *Curr Genet*, **15**: 63—70

Newton KJ, 1988. Plant mitochondrial genomes: organization, expression and varation [J]. *Ann Rev Pl Phys Pl Molec Biol*, **39**: 503—532

Nickrent DL, Franchina CR, 1990. Phylogenetic relationships of the Santalales and relatives [J]. *J Molec Evol*, **31**: 294—301

Nickrent DL, Soltis DE, 1995. A comparison of angiosperm phylogenies from nuclear 18S rDNA and rbcL sequences [J]. *Ann Missouri Bot Gard*, **82**: 208—234

Nickrent DL, Starr EM, 1994. High rates of nucleotide substitution on nuclear small-subunit (18S) rDAN from holoparasitic flowering plants [J]. *J Molec Evol*, **39**: 62—70

Oda K, Yamato K, Ohta E, *et al*, 1992. Gene organization deduced from the complete sequence of liverwort *Marchantia polymorpha* mitochondrial DNA [J]. *J Molec Biol*, **223**: 1—7

Ohsako T, Ohnishi O, 2000. Intra-and interspecific phylogeny of wild Fagopyrum (Polygonaceae) species based on nucleotide sequences of noncoding regions in chloroplast DNA [J]. *Amer J Bot*, **87**: 573—582

Ohyama K, Fukuzawa H, Kohchi T, *et al*, 1986. Complete nucleotide sequence of liverwort *Marchantia polymorpha* chloroplast DNA [J]. *Pl Mol Biol Rep*, **4**: 148—175

Olmstead RG, Michaels HJ, Scott KM, *et al*, 1992. Monophyly of the Asteridae and identification of their major lineages inferred from DNA sequences of *rbc*L [J]. *Ann Missouri Bot Gard*, **79**: 249—265

Olmstead RG, Palmer JD, 1994. Chloroplast DNA systematics: A review of methods and data analysis [J]. *Amer J Bot*, **81**: 1205—1224

Olmstead RG, Sweere JA, 1994. Compining data in phylogenetic systematics: an empirical approach using three molecular data sets in the Solanaceae [J]. *Syst Biol*, **43**: 467—481

Olmstead RG, Sweere JA, Wolfe KH, 1993. Ninety extra nuclotides in *ndh*F gene Zof tobacco chloroplast DNA: a summary of revisions to the 1986 genome sequence [J]. *Plant Molec Biol*, **22**: 1191—1193

Oxelman B, Lidn M, 1997. Chloroplast rps16 intron phylogeny of the tribe Sileneae (Caryophyllaceae) [J]. *Plant Syst Evol*, **206**: 393—410

Palmer JD, 1990. Contrasting modes and tempos of genome evolution in land plant organelles [J]. *Trends in Genet*, **6**: 115—120

Palmer JD, 1991. Plastid chromosomes: Structure and evolution, in Bogorad L, Vasil I K [eds.], The molecular biology of plastids, Cell culture and somatic cell genetics of plants [M], Academic Press, San Diego, California, USA, vol. 7A, 5—53

Palmer JD, 1992. Mitochondrial DNA in plant systematics: applications and limitaions, in Soltis P S, Soltis D E, Doyle J J [eds.], Molecular Systematics of Plants [M], Chapman and Hall, New York, NY, 36—49

Peralta IE, Ballard H, Spooner DM, 1997. "*Waxy*" gene intron phylogeny of tomatoes, Solanum subsect. *Lycopersicum*

(Solanaceae) [J]. *Amer J Bot*, **84**S: 222

Plunkett GM, Soltis DE, Soltis PS, 1997. Clarification of the relationship between Apiaceae and Araliaceae based on matK and rbcL sequence data [J]. *Amer J Bot*, **84**: 565—580

Posno MA, van Vliet, Groot GP, 1986. The gene for *Spirodela oligorhiza* chloroplast ribosomal protein homologous to E. coli ribosomal protein L16 is split by a large intron near its 5'end: structure and expression [J]. *Nucleic Acids Res*, **14**: 3181—3195

Prather LA, Ferguson CJ, Jansen RK, 2000. Polemoniaceae phylogeny and classification: implications of sequence data from the chloroplast gene *ndh*F [J]. *Amer J Bot*, **87**: 1300—1308

Renner SS, 1999. Circumscription and phylogeny of the Laurales: Evidence from molecular and morphological data [J]. *Amer J Bot*, **86**: 1301—1315

Richardson JE, Fay MF, Cronk QB, *et al*, 2000. A phylogenetic analysis of Rhamnaceae using rbcL and *trnL-F* plastid DNA sequences [J]. *Amer J Bot*, **87**: 1309—1324

Ritland K, Clegg MT, 1987. Evolutionary analysis of plant DNA sequences [J]. *Amer Naturalist*, **30**S: 74—100

Ritland K, Clegg MT, 1990. Optimal DNA sequence divergence for testing phylogenetic hypothese, in Clegg M T, O'Brien S J [eds.], Molecular evolution, UCLA symposia on molecular and cellular biology [M], Alan R. Liss, New York, NY, new series, vol. **122**: 289—299

Sanderson MJ, Doyle JJ, 1991. Reconstruction of organismal and gene phylogenies from data on multigene families: concerted evolution, homoplasy, and confidence [J]. *Syst Biol*, **41**: 4—17

Sang T, Crawford DJ, Stuessy TF, 1997a. Chloroplast DNA phylogeny, reticulate evolution, and biogeography of *Paeonia* (Paeoniaceae) [J]. *Amer J Bot*, **84**: 1120—1136

Sang T, Donoghue MJ, Zhang D, 1997b. Evolution of alcohol dehydrogenase gene in Peonies (*Paeonia*): Phylogenetic relationships of putative nonhybrid species [J]. *Mol Biol Evol*, **14**: 994—1007

Savolainen V, Manen JF, Douzery E, *et al*, 1994. Molecular phylogeny of families related to Celastrales based on *rbc*L 5'flanking sequences [J]. *Mol Phylogenet Evol*, **3**: 27—37

Savolainen V, Spichiger R, Manen JF, 1997. Polyphyletism of Celastrales deduced from a chloroplast noncoding DNA region [J]. *Mol Phylogenet Evol*, **7**: 145—157

Schnabel A, Wendel JF, 1998. Cladistic biogeography of Gleditsia (Leguminosae) based on *ndhF* and *rpL*16 chloroplast gene sequences [J]. *Amer J Bot*, **85**: 1753—1765

Schwarzbach AE, Ricklefs RE, 2000. Systematic affinities of Rhizophoraceae and Anisophylleaceae, and intergeneric relationships within Rhizophoraceae, based on chloroplast DNA, nuclear ribosomal DNA, and morphology [J]. *Amer J Bot*, **87**: 547—564

Scotland RW, Sweere JA, Reeves PA, *et al*, 1995. Higher-level systematics of Acanthaceae determined by chloroplast DNA sequences [J]. *Amer J Bot*, **82**: 266—275

Sheahan MC, Chase MW, 1996. A phylogenetic analysis of Zygophyllaceae R. Br. based on morphological, anatomical and rbcL DNA sequences data [J]. *Bot J Linn Soc*, **122**: 279—300

Small RL, Ryburn JA, Cronn RC, *et al*, 1998. The tortoise and the hare: choosing between noncoding plastome and nuclear *Adh* sequences for phylogeny reconstruction in a recently diverged plant group [J]. *Amer J Bot*, **85**: 1301—1315

Smith JF, Carroll CL, 1997. Phylogenetic relationships of the Episcieae (Gesneriaceae) based on *ndhF* sequences [J]. *Syst Bot*, **55**: 1—11

Smith JF, Wolfram JC, Brown KD, *et al*, 1997. Tribal relationships in the Gesneriaceae: evidence from DNA sequences of the chloroplast gene *ndhF* [J]. *Ann Missouri Bot Gard*, **84**: 50—66

Stanford AM, Harden R, Parks CR, 2000. Phylogeny and biogeography of *Jugland* (Juglandaceae) based on *mat*K and ITS sequence data [J]. *Amer J Bot*, **87**: 872—882

Suguira M, 1989. The chloroplast chromosomes in land plants [J]. *Ann Rev Cell Biol*, **5**: 51—70

Swofford DL, Olsen GJ, 1990. Phylogeny reconstruction, in Hillis D M, Moritz C [eds.], Molecular systematics [M], Sinauer Associates, Sunderland, 411—501

Taberlet P, Gielly L, Pautou G, *et al*, 1991. Universal primers for amplication of three non-coding regions of chloroplast DNA [J].

Plant Mol Biol，**17**：1105—1109

Wallander E，Albert VA，2000. Phylogeny and classification of Oleaceae based on rps16 and *trnL-F* sequnces data [J]. *Amer J Bot*，**87**：1827—1841

Wang XQ（汪小全），Hong DY（洪德元），1997. Progress in molecular systematics of plants in recent five years [J]. *Acta Phyto Sin*（植物分类学报），**35**：465—480

Wang XQ，Tank DC，Sang T，2000. Phylogeny and divergence times in Pinaceae：Evidence from three genomes [J]. *Mol Biol Evol*，**17**：773—781

Waters ER，1995. An evaluation of the usefulness of the small heat shock genes for phylogenetic analysis in plants [J]. *Ann Missouri Bot Gard*，**82**：278—295

Widmer A，Baltisberger M，1999. Molecular evidence for allopolyploid speciation and a single origin of the narrow endemic *Draba ladina*（Brassicaceae）[J]. *Amer J Bot*，**86**：1282—1289

Wolfe KH，1991. Protein-coding genes in chloroplast DNA：compilation of nucleotide sequences，data base entries and rates of molecular evolution，in Vasil I K [eds.]，Cell culture and somatic Cell Genetics of Plants [M]，Academic Press，San Diego，Vol. 7B，467—482

Wolfe KH，Li W-H，Sharp PM，1987. Rates of nucleotide substitution vary greatly among plant mitochondrial，chloroplast，and nuclear DNAs [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*，**84**：9054—9058

Xiang Q-Y，Crawford DJ，Wolfe AD，*et al*，1998. Origin and biogeography of *Aesculus* L.（Hippocastanaceae）：A molecular phylogenetic perspective [J]. *Evolution*，**52**：988—997

Xiang Q-Y，Soltis DE，Morgan DR，*et al*，1993. Phylogenetic relationships of *Cornus* L. sensu lato and putative relatives inferred from *rbc*L sequence data [J]. *Ann Missouri Bot Gard*，**80**：723—734

Yasui Y，Ohnishi O，1998. Interspecific relationships in *Fagopyrum*（Polygonaceae）revealed by the nucleotide sequences of the *rbcL* and *accD* genes and their intergenic region [J]. *Amer J Bot*，**85**：1134—1142

Zhang W，1996. Phylogeny and classification of the Bamboos（Poaceae：Bambusoideae）[M]. Unpublished Ph. D. dissertation，Iowa State University，Ames

Zurawski G，Bottomley W，Whitfield PR，1982. Structures of the genes for the ? and E subunits of spinach chloroplast ATPase indicate a dicistronic mRNA and an overlapping translation stop/start signal [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*，**79**：6260—6264

Zurawski G，Clegg MT，1987. Evolution of higher-plant chloroplast DNA-coded genes：Implications for structure-function and phylogenetic studies [J]. *Ann Rev Pl Phys*，**38**：391—418